

**Antibiotische Aktivität
von Myxobakterien der Gattung
Myxococcus aus dem Bodensee**

von
Eva Maria Merkel
aus
Nürnberg



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546303_0024

Aus dem Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie
der Universität Erlangen-Nürnberg

Ehemaliger Direktor: Professor Dr. med. M. Knorr

Antibiotische Aktivität von Myxobakterien der Gattung Myxococcus aus dem Bodensee

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Eva Maria Merkel
aus
Nürnberg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. med. E. Wetterer
Referent: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. W. Gräf
Korreferent: Prof. Dr. med. M. Knorr
Tag der mündlichen Prüfung: 22. Juli 1968

Inhaltsübersicht

	Seite
I Einleitung	1
II Experimenteller Teil	6
A) Antibiose der Myxobakterien gegen eine Auswahl verschiedener Bakterienarten	6
1) Herkunft und Art der getesteten Myxobakterienstämme	6
2) Die Teststämme	7
3) Die Wahl eines geeigneten Nährbodens	7
4) Die Anordnung der Versuche	8
5) Beschreibung der Versuchsreihen mit Ergebnissen und Abbildungen	9
B) Antibiose der Myxobakterien gegen Wasser- amöben	18
1) Herkunft und Art der getesteten Myxo- bakterienstämme	18
2) Versuchsanordnung und -beschreibung	19
III Diskussion	21
IV Zusammenfassung	24
V Literaturnachweise	

I. Einleitung

Die Myxobakterien bilden auf Grund ihrer morphologischen und physiologischen Eigenschaften eine höchst interessante Bakteriengruppe und werden dementsprechend in einer eigenen Ordnung zusammengefasst (Thaxter 1892).

Die Bezeichnung "Myxo"bakterien, d.h. also Schleimbakterien hat seit ihrer Erstbeschreibung durch Thaxter fortwährend Anlass zu irrtümlichen Vorstellungen gegeben, da hiermit selbst von Mikrobiologen die Vorstellung verknüpft wird, dass diese Bakterien eine besonders reichliche Schleimproduktion aufweisen. In Wirklichkeit ist eine excessive Schleimbildung praktisch bei keiner der uns bekannten Myxobakterienarten in makroskopischer oder in mikroskopischer Hinsicht (Schleimkapsel!) feststellbar.

Die Bezeichnung Myxobakterien dürfte sich unserer Meinung nach davon ableiten, dass die fruktifizierenden Arten dieser Bakterien makroskopisch hinsichtlich Pigmentbildung und Kulturmorphologie eine grosse Ähnlichkeit mit den schon früher bekannten Myxomyceten (= Schleimpilze) besitzen. In Abwandlung der Bezeichnung "Myxo"myceten ist dann der Begriff "Myxo"-bakterien entstanden (Gräff).

Die Sonderstellung der Myxobakterien innerhalb des Bakterienreichs gründet sich vor allem auf vier morphologische und funktionelle Merkmale, die sich übereinstimmend bei allen Myxobakterienarten finden, nämlich kriechend - gleitende Fortbewegung, aktive Flexibilität der Zelle, ein besonderer Lebenszyklus mit z.T. Fruchtkörperausbildung und das Vorhandensein distinkter Kernäquivalente.

Als besonders auffälliges Merkmal ist ihre Bewegungsform anzusehen. Sie bewegen sich kriechend - gleitend auf festen Unterlagen, indem sie kontinuierlich auf der Oberfläche dahingleiten. Manchmal wird diese Gleitbewegung aber durch ruckartige Richtungsänderungen unterbrochen. Da keine Bewegungsorganellen sichtbar

gemacht werden konnten, liess sich der Fortbewegungsmechanismus bis in die jüngste Zeit nicht aufklären. Erst bei ausgedehnten elektronenoptischen Untersuchungen stellte man fest, dass sich die Myxobakterien nicht geradlinig vorwärtsbewegen, sondern sich gleichzeitig um ihre Längsachse drehen, was einer schraubenartigen Vorwärtsbewegung entspricht. Ausserdem konnte gezeigt werden, dass diese Bewegungen von Schleimmassen an der Zelloberfläche der Myxobakterien bewirkt werden (Gräf).

Als eine weitere Besonderheit erweist sich die aktive Flexibilität der Myxobakterienzelle, die sich in Abknickbewegungen während des Vorwärtsgleitens äussert. Die Myxobakterien können also nicht starr und formunveränderlich sein. Es stellte sich bei elektronenoptischen Untersuchungen heraus, dass die diese Eigenschaft bewirkenden Zellorganellen Fibrillenschichten sind, die in schlauchartiger, längsgerichteter Anordnung die Myxobakterienzelle umschliessen. Die Myxobakterien besitzen also im Gegensatz zu anderen Bakterien keine Geisseln oder ein kontraktiles Fibrillenslängsbündel wie die Spirochaeten, sondern einen kontraktilen Fibrillenschlauch an Stelle einer Zellwand (Gräf).

Die wohl interessanteste und morphologisch hervorstechendste Besonderheit der Myxobakterien ist ihr Lebenszyklus. Die vegetativen Myxobakterienzellen können sich bei ungünstigen Umweltbedingungen durch Verkürzung oder Abrundung in sogenannte Ruhezellen oder Mikrozysten verwandeln. Bei Zusammenlagerung mehrerer dieser Mikrozysten ergeben sich dann, von Schleim zusammengehalten, die sogenannten Fruchtkörper. Es gibt jedoch auch Myxobakterienarten, die keine Fruchtkörper bilden, und auch solche, die nicht einmal Mikrozysten bilden, sondern nur in vegetativer Form existieren.

Die Höherentwicklung der Myxobakterien lässt sich durch die ohne besondere Färbemethoden nachweisbaren Kern-

äquivalente und morphologisch sichtbare Genaustauschprozesse erkennen.

Die Systematik der Myxobakterien soll nur kurz erwähnt werden, Ihr liegt die Fruchtkörpergestaltung, bzw. die Mikrozystenbildung zugrunde. Die Myxobakterien sind zusammengefasst in der Ordnung VIII: Myxobacterales, die wiederum in fünf Familien untergeteilt ist. Am Beginn steht die Familie der Cytophagaceae, die keine Fruchtkörper- oder Ruhezellenbildung aufweist. Bei den folgenden Familien, den Archangiaceae, den Sorangiaceae und den Polyangia-ceae sind die Ruhezellen zu unterschiedlich ausgestalteten Fruchtkörpern vereinigt. In der letzten Familie, den Myxococcaceae, sind alle die Myxobakterien zusammengefasst, die kugelige Mikrozysten mit oder ohne Fruchtkörperbildung entwickeln.

Alle fruktifizierenden Myxobakterien kommen hauptsächlich als Bodenbakterien vor. Vor allem sind sie in den Ausscheidungen pflanzenfressender Tiere in grosser Menge zu finden. Es sind aber auch spezifische Wassermyxobakterienarten bekannt - wie z.B. Sporocytophaga cauliformis, die sich morphologisch von den Bodenmyxobakterien durch Ausbildung rüsselartiger Fortsätze unterscheiden, welche sich allerdings nur unter gewissen Kulturbedingungen ausbilden (Gräf, Gräf und Stürzenhofecker).

Erst vor kurzem konnten anaerobe Myxobakterienarten auch in der menschlichen Mundhöhle nachgewiesen werden (Gräf).

In letzter Zeit wurde das Vorkommen fruktifizierender Myxobakterien auch in Oberflächengewässern beobachtet (Brockmann; Gräf; Brauss, Heyne - Katzenberger, Pech und Barth).

Mit Hilfe spezifischer Kultivierungsmethoden konnten sie aus den Wasserproben angezüchtet werden. Neue Untersuchungen lassen vermuten, dass die Anwesenheit solcher Myxobakterienarten in Oberflächengewässern

als Fäkalindikator zu bewerten ist (Gräf).

Das relativ gehäufte Vorkommen dieser Myxobakterien in abwasserbelasteten Oberflächengewässern lässt neben ihrer Fäkalindikatorfunktion auch ihre eventuell vorhandenen antibiotischen Aktivitäten gegenüber anderen Wassermikroorganismen interessant erscheinen. Ziel der vorliegenden Arbeit war es demnach, die Einwirkung von aus dem Bodenseewasser isolierten Myxococcenstämmen auf eine Reihe verschiedener Bakterienarten und auf Wasseramöben zu untersuchen.

Über die Antibiose der Myxobakterien allgemein sind schon zahlreiche Untersuchungen bekannt. Als erster berichtete Oxford über ein Antibiotikum produzierendes Myxobakterium (*M. virescens*). Die antibiotische Wirkung war aber auf grampositive Bakterien beschränkt. Auch die Rohdarstellung der wirksamen Substanz gelang (Oxford und Singh). Kato wies bei *M. fulcus* eine antibiotische Aktivität sowohl gegen grampositive als auch gegen gramnegative Keime nach.

Die antibiotische Wirksamkeit bestimmter Myxobakterienstämmen erstreckt sich nicht nur auf Bakterien, sondern auch auf Algen, Hefezellen, Phycomyceten und einige Virusarten (Solntzewa 1939; Snieszko, Mc Allister und Hitchner 1941; Oxford und Singh 1946; Singh 1947; Finck 1951; Norén 1953; Katzenberger, Kühlwein und Kausche 1956; Katzenberger und Kausche 1957, 1959; Norén und Raper 1962).

So berichten Katzenberger und Kausche über die antibiotische Wirkung von *M. virescens* gegen Influenza- und Mumpsviren. Bei G. Finck findet man Untersuchungen über die Bildung von Antibiotika bei *M. rubescens*, *M. viperus*, *M. cerebriiformis*, *M. brevipes* und *M. polycistus* gegen Luftkokken, Kurzstäbchen und Sporenbildner, aber auch gegen Aspergillaceen und *Penicillium* - Arten. Dabei ergab sich bei *M. rubescens* eine sehr starke fungicide Wirkung. Norén und Raper stellten bei *M. virescens*, *M. fulvus*,

M. stipitatus, *Chondrococcus blasticus*, und *Chondromyces crocatus* im Gegensatz zu Kato eine antibiotische Wirkung nur gegen grampositive Keime fest. Kürzlich wurde von Peterson, Gillespie und Cook über ein Breitbandantibiotikum berichtet, das von einer Sorangium - Species gebildet wird. Edwards und Gillespie konnten in Fortsetzung dieser Arbeit zeigen, dass dieses sogenannte Myxin chemisch unter die Gruppe der Aminoindiole einzureihen ist.

Speziell über Wassermyxobakterien und ihren antibiotischen Wirkstoff berichten Gräff und Sukatsch 1965. Hierbei wurden 317 Stämme der Wassermyxobakterienart *Sporocytophaga cauliformis* auf ihre antibiotische Wirksamkeit getestet. Davon gehörten 76% zum Typ I - sie können zuckerhaltige Nährböden säuern und sind starke Katalasebildner - und 24% zum Typ II - sie haben kein Zuckerspaltungsvermögen und weisen nur eine schwache Katalaseaktivität auf. Als antibiotisch wirksam erwies sich nur Typ II und zwar zu 53,4%. Der Gesamtprozentsatz an antibiotisch wirksamen Wassermyxobakterienstämmen betrug 12,3%.

Das antibiotische Spektrum umfasste sowohl grampositive Keime, wobei Wirksamkeit bestand gegen Staphylokokken und anaerobe Sporenbildner, jedoch nicht gegen Streptokokken, als auch gramnegative Keime, von denen *E. coli* und alle geprüften Salmonellen- und Shigella-Arten empfindlich waren, während die typischen Wasserkeime *Ps. aeruginosa* und *Ps. fluorescens* völlig resistent waren.

Es ergab sich also eine fast elektive Wirksamkeit gegen pathogene Darmbakterien, ausserdem aber auch gegen Amöben. Allerdings kam die protostatische Eigenschaft bei beiden Typen und nur in 10,4% vor.

In Fortsetzung dieser Untersuchungen über die antibiotische Wirksamkeit von Wassermyxobakterien sollten nunmehr die ebenfalls in Oberflächengewässern vorkommenden fruktifizierenden Myxobakterien auf eine eventuell vorhandene antibiotische Aktivität geprüft werden.

II. Experimenteller Teil

A) Antibiose der Myxobakterien gegen eine Auswahl verschiedener Bakterienarten

1. Herkunft und Art der getesteten Myxobakterienstämme

Es standen uns 17 Myxobakterienstämme zur Verfügung. Sämtliche Stämme sind aus Oberflächengewässern isoliert worden und zwar aus verschiedenen Regionen des Bodensees. Als Isolierungstechnik wurde sowohl die Ködermethode als auch die Membranfiltermethode verwendet (Gräf).

Bei der Ködertechnik, die bei Bodenuntersuchungen üblich ist, werden sterile Kaninchen- bzw. Mäusekotsäckchen in die Wasseroberfläche gehängt. Danach werden diese bei 33°C 8 bis 10 Tage bebrütet, bis sich Fruchtkörper ausgebildet haben. Diese werden dann vorsichtig auf geeignete misthaltige Agarnährböden überimpft, wodurch man verhältnismässig einfach Reinkulturen der Myxobakterienstämme erhält.

Die Membranfiltertechnik wird speziell zum quantitativen Nachweis von Myxococcusarten im Wasser verwendet. Dabei werden die Wasserproben in abgestuften Volumina durch sterile Membranfilter gesaugt. Danach werden die Filterscheiben in acht Segmente geteilt und 8 bis 10 Tage bei 33°C bebrütet. Waren Myxobakterien vorhanden, so entwickeln sich nach dieser Zeit auf den Membranen die typischen Fruchtkörper.

Bei den untersuchten Stämmen handelt es sich grundsätzlich um Myxococcaceae und zwar gehören alle zum Genus I: Myxococcus, d.h.: sie bilden Mikrozysten und Fruchtkörper.

Entsprechend der üblichen Speciesunterteilung nach dem Pigment der Fruchtkörper handelt es sich bei den untersuchten Stämmen um:

M1	=	M. rubescens
M2	=	M. virescens
M3	=	M. albus
M4	=	M. xanthus
M5	=	M. citreus
M6	=	M. albus
M7	=	M. citreus
M8	=	M. xanthus
M9	=	M. virescens
1Aw 1	=	M. albus
12Aw 1	=	M. rubescens
2oAw 1	=	M. xanthus
21Aw 1	=	M. rubescens
19BP	=	M. citreus
23BP	=	M. xanthus
41BP	=	M. rubescens
U II	=	M. virescens

2. Die Teststämme

Es wurden grampositive und gramnegative Keime in 9 Versuchsreihen getestet. Im einzelnen sind sie in Tabelle 2, Seite 22 aufgeführt.

3. Die Wahl eines geeigneten Nährbodens

Zur Durchführung der Versuche war es notwendig, einen Nährboden zu finden, auf dem sowohl die Myxobakterien als auch die Testkeime wuchsen. Die Myxobakterien wurden auf Mistagarnährböden gezüchtet, auf dem aber die meisten Testkeime nicht angingen. Zur Wahl standen Blutplatten, Cenovisagar, Fleischwasseragar und Moutonagar. Nur auf den Blut- und Moutonagarplatten wuchsen alle Myxobakterienstämme und auch die Teststämme an. Hammelblutagarplatten wurden nur für die Versuche mit Coryne-

bacterium diphtheriae und Actinomyceten verwendet. Ein spezifischer Nährboden, der später beschrieben wird, war für die Tuberkulosebakterien nötig. Für die übrigen Testkeime wurde ein Nährboden auf der Basis des Moutonagars verwendet. Da die Myxobakterien auf normalem Moutonagar zu stark schwärmten, wurde eine Modifikation folgender Zusammensetzung verwendet: 500,0 ml Fleischwasserbouillon, Aqua dest. ad 1000,0 ml, 20 g Agar; pH = 7,2.

4. Die Anordnung der Versuche

Die Untersuchung der Stämme auf antibiotische Fähigkeiten wurde im sogenannten Strichtest vorgenommen. Auf die Agarplatten wurde der zu testende Myxobakterienstamm in der Mitte strichförmig aufgeimpft. Es wurde versucht, die Myxobakterien in physiologischer Kochsalzlösung zu suspendieren, um ein gleichmässiges Wachstum zu erzielen. Dies führte aber nicht zum Erfolg, da homogene Suspensionen nicht herstellbar waren. Deshalb musste direkt von der Kultur auf die Testplatten überimpft werden.

Die Bebrütung bei 34°C erfolgte so lange, bis dichte strichförmige Kolonien angewachsen waren.

Da die einzelnen Stämme nicht gleichmässig schnell angingen, war die Bebrütungszeit unterschiedlich:

M1, M3, M6, M8, 20Aw 1, U II	1 Tag
M2, M9, 1Aw 1, 12Aw 1, 21Aw 1, 19BP, 23 BP, 41BP	2 Tage
M4, M5, M7	4 Tage

Senkrecht zu der entstandenen Strichkultur wurde dann jeweils eine Auswahl verschiedener Testkeime mit der Öse bis zum Rand des Myxobakterienrasens strichförmig aufgeimpft. Die Testkeime wurden immer aus einer Kultur entnommen, die erst 24 Stunden vorher angesetzt worden war. Ausserdem wurden sie vor der Überimpfung in NaCl suspendiert.

Bei Vorliegen einer antibiotischen Aktivität des jeweiligen Myxobakterienstammes zeigte sich nach 24 - stündigem oder 48 - stündigem Bebrüten bei 22°C bzw. 34°C oder 37°C, was sich nach der Art der Testkeime richtete, in der Umgebung der Myxobakterienstrichkultur eine mehr oder minder starke Wachstums hemmung der Testkeime.

5. Beschreibung der Versuchsreihen mit Ergebnissen und Abbildungen

- a) Zeichenerklärung:
- | | |
|-----|-----------------------|
| + | = schwache Hemmung |
| ++ | = deutliche Hemmung |
| +++ | = sehr starke Hemmung |
| - | = keine Hemmung |

b) Versuchsergebnisse:

1. Versuchsreihe: (24 Stunden bei 34°C bebrütet)

Teststämme:

Ps. aeruginosa	= A
Oidium albicans	= B
Bac. subtilis	= C
Staphyl. aureus	= D
E. coli	= E

Ergebnis:

	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8 ⁺	M9	U II
A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B	++	++	+++	+	++	+	+	+++	++	++
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++

⁺ siehe Abb. 1

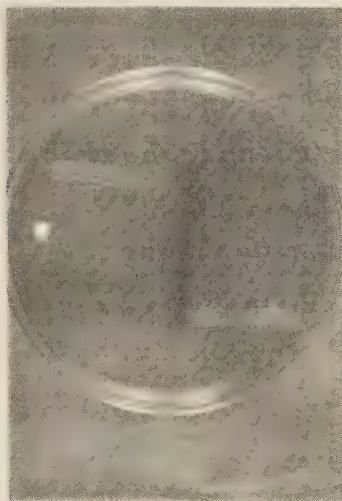
	1Aw 1	12Aw 1	2oAw 1	19BP	23BP	41BP
A	-	-	-	-	-	-
B	+++	+	+++	++	+	+
C	-	-	-	-	-	-
D	-	-	-	-	-	-
E	-	-	-	-	-	-

Die 1. Versuchsreihe ergibt eine durchwegs starke Sensibilität von *Oidium albicans* gegenüber allen getesteten Myxococcenstämmen, während *Staph. aureus* und *E. coli* nur gegen U II empfindlich waren und *Ps. aeruginosa* sowie *Bac. subtilis* überhaupt resistent blieben.

Bac. subtilis

Oidium albicans

Ps. aeruginosa



E. coli

Staph. aureus

Abb. 1

Die Photographie zeigt für Stamm M8 das Ergebnis der 1. Versuchsreihe. *Oidium albicans* wird fast im ganzen Bereich des Impfstrichs am Wachstum gehindert.

2. Versuchsreihe: (24 Stunden bei 22°C bebrütet)

Teststämme: A1/1 = Flavobact.

62 = Ps. fluorescens, nicht hämolys.

C = Ps. fluorescens, hämolysierend

A 54 = Sporoc. cauliformis, Typ I

Z 6 = Sporoc. cauliformis, Typ II

Ergebnis: Keine Hemmung der Teststämme bei keinem der Myxobakterienstämme.

3. Versuchsreihe: (24 Stunden bei 22°C bebrütet)

Teststämme: 133, 134, 135 (verschiedene Hefestämme)

Ergebnis:

	M1 ⁺	M2 ⁺⁺	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	U II
133	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	++
134	+++	++	+	+	+	++	++	++	++	-
135	+++	++	+	-	+	++	++	++	++	-

	1Aw 1	12Aw 1	2oAw 1	21Aw 1	19BP	23BP	41BP
133	++	+++	++	+++	++	++	++
134	++	+	+++	++	+++	++	+
135	+	+	+	+	+	+	-

⁺ siehe Abb. 2 ⁺⁺ siehe Abb. 3

Die 3. Versuchsreihe zeigt eine Empfindlichkeit von 133 gegenüber allen geprüften Myxococcenstämmen, während 134 von 16 Stämmen und 135 von 14 Stämmen teilweise stark gehemmt wurden.



Abb. 2

Ergebnis des Hemmversuchs der 3. Versuchsreihe bei Stamm M1. Die getesteten Hefestämme werden alle am Wachstum gehindert. Besonders 133 zeigt fast im ganzen Bereich des Impfstrichs eine Wachstumshemmung.

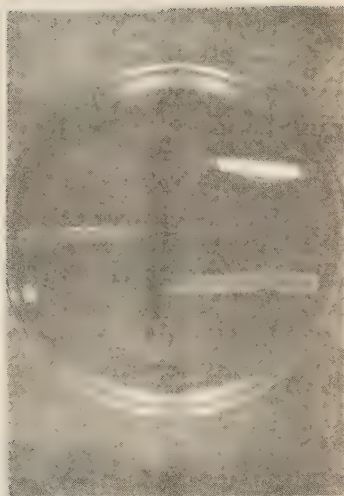


Abb. 3

Ergebnis des Hemmversuchs der 3. Versuchsreihe bei Stamm M2. Auch M2 hemmt alle drei getesteten Hefestämme deutlich am Wachstum.

4. Versuchsreihe: (24 Stunden bei 34°C bebrütet)

<u>Teststämme:</u>	48	=	Corynebact. xerosis
	137, 138, 139	=	Pasteurella pseudotuberculosis (3 Stämme)

Ergebnis:

	M1	M2	M3	M4	M5	M6 ⁺	M7	M8	M9	U II
48	-	+	-	+	+	+++	+	+++	+	+++
137	-	+	-	+	+	+	++	+	+	+++
138	+	+++	+	+++	++	++	+++	+++	++	++
139	-	-	-	++	+	+	++	+-	+	+++

	1Aw 1 ⁺⁺	12Aw 1	2oAw 1	21Aw 1	19BP	23BP	41BP
48	+++	+	+	-	+	+	-
137	++	-	+	+	+	-	-
138	+++	++	++	++	+++	++	-
139	++	-	++	+	++	-	-

⁺ siehe Abb. 4

⁺⁺ siehe Abb. 5

Die 4. Versuchsreihe ergibt bei den Teststämmen gegenüber fast allen geprüften Myxococcenstämmen eine ausgeprägte Empfindlichkeit. Der Pasteurellenstamm 138 vor allem ist nur einem Myxococcus - Stamm (41BP) gegenüber resistent.

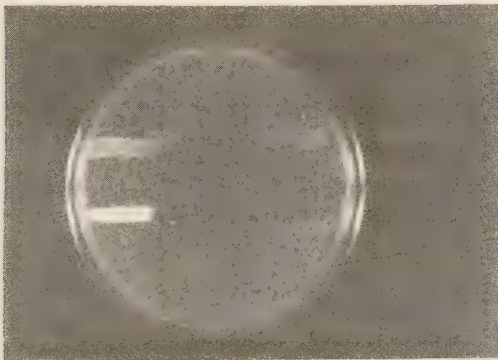


Abb. 4.

Ergebnis des Hemmversuchs der 4. Versuchsreihe bei Stamm M6.
Alle Teststämmen werden deutlich gehemmt.

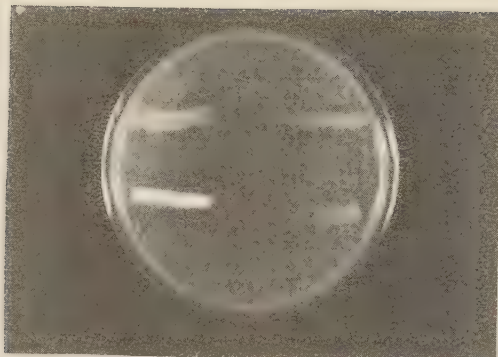


Abb. 5

Ergebnis des Hemmversuchs der 4. Versuchsreihe bei Stamm 1Aw 1. Wie auf Abb. 4 erkennt man auch hier eine ausgeprägte Wachstumshemmung aller vier Teststämme.

5. Versuchsreihe: (24 Stunden bei 34°C bebrütet)

Teststamm: *Mucor mucedo* = M

Ergebnis:

	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	U II
M	++	+	+	+	++	-	+	+	-	-

	1Aw 1	12Aw 1	2oAw 1 ⁺	21Aw 1	19BP	23BP	41BP
M	-	-	+	-	-	+	-

⁺ siehe Abb. 6

Die 5. Versuchsreihe ergibt bei über der Hälfte der geprüften Myxococcenstämme eine schwach ausgeprägte antibiotische Aktivität gegen den Teststamm *Mucor mucedo*.

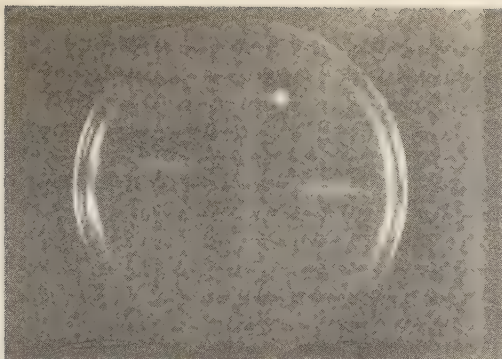


Abb. 6

Die Abbildung zeigt das Ergebnis des Hemmversuchs der 5. Versuchsreihe bei Stamm 2oAw 1. *Mucor mucedo* wird etwa in einem Drittel des Impfstrichs am Wachstum gehindert.

6. Versuchsreihe: (48 Stunden bei 22°C bebrütet)

Teststamm: *Streptomyces rimosus* = St

Ergebnis:

	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8 ⁺	M9	U II
St	-	-	-	-	-	-	-	+	(+)	+

	1Aw 1 ⁺⁺	12Aw 1	2oAw 1	21Aw 1	19BP	23 BP	41BP
St	(+)	-	(+)	-	-	-	-

⁺ siehe Abb. 7

⁺⁺ siehe Abb. 8

Die 6. Versuchsreihe ergibt nur bei 2 Myxococcenstämmen (M8 und U II) eine eindeutige, wenn auch schwache antibiotische Wirkung gegen den *Streptomyces*stamm.

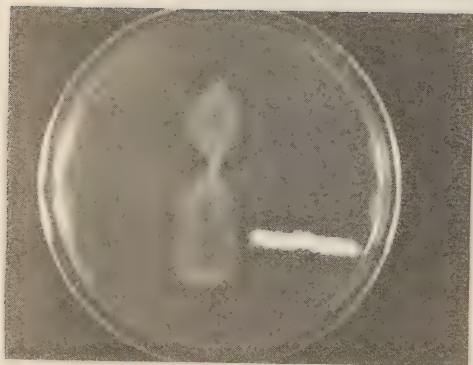


Abb. 7

Ergebnis des Hemmversuchs
der 6. Versuchsreihe für
Stamm M8.
Man erkennt bei dem geteste-
ten Streptomycesstamm eine
schwache Wachstumshemmung.

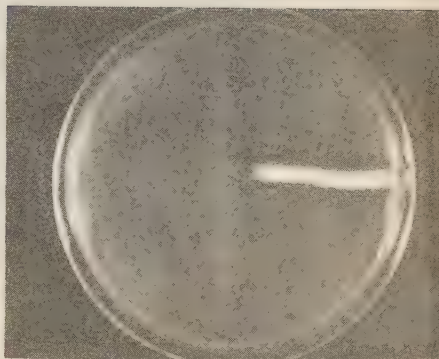


Abb. 8

Ergebnis des Hemmversuchs
der 6. Versuchsreihe für
Stamm 1Aw 1.
Es ist eine schwach ausge-
prägte Empfindlichkeit des
Teststamms zu erkennen.

7. Versuchsreihe: (48 Stunden bei 37°C bebrütet)

Teststamm: Actinomyces israeli

Ergebnis: Der Teststamm wird von keinem der geprüften
Myxococcenstämmen in seinem Wachstum gehemmt.

8. Versuchsreihe: (10 Tage bei 37°C bebrütet)

Teststämmen: Mycobacterium tuberculosis var. humanus
Mycobacterium tuberculosis var. bovinus
Mycobacterium avium
5 apathogene Mycobakterienstämmen

Nährboden: Es wurde der für die Tuberkulosebakterien übliche Eiernährboden verwendet, allerdings ohne Malachitgrün und mit einem Zusatz von 1% Agar, da die Myxobakterienstämme ohne Agarzusatz stark einsanken.

Versuchsanordnung: Diesmal wurden die Teststämme und der jeweilige Myxobakterienstamm gleichzeitig im Strichtest aufgeimpft, da die Teststämme langsamer wuchsen als die Myxobakterien.

Ergebnis: Alle Teststämme waren gegen die geprüften Myxococcenstämme resistent.

9. Versuchsreihe: (48 Stunden bei 37°C bebrütet)

Teststamm: Corynebacterium diphtheriae = C

Nährboden: Es wurden Hammelblutplatten verwendet.

Ergebnis:

	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	U II ⁺
C	-	-	++	-	-	++	+	++	-	+++

	1Aw 1	12Aw 1	2oAw 1	21Aw 1	19BP	23BP	41BP
C	-	-	+	-	-	++	-

⁺ siehe Abb. 9

Die 9. Versuchsreihe ergibt bei 7 von 17 geprüften Myxococcenstämmen eine ausgeprägte antibiotische Aktivität gegen Corynebact. diphtheriae.

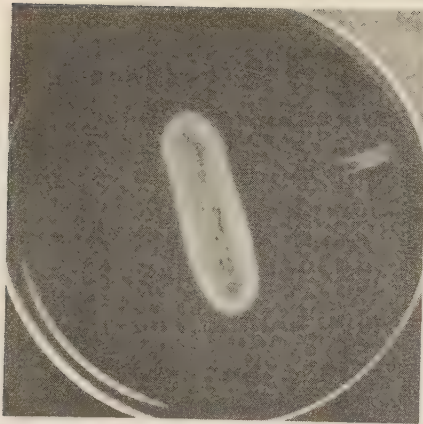


Abb. 9

Die Abbildung zeigt das Ergebnis der 9. Versuchsreihe bei dem Stamm U II.

Corynebact. diphtheriae wird sehr stark gehemmt, ein Wachstum besteht nur im ersten Drittel des Impfstrichs.

B) Antibiose der Myxobakterien gegen Wasseramöben

1. Herkunft und Art der getesteten Myxobakterienstämme

Zu diesem Versuch standen 57 Stämme zur Verfügung, bei denen es sich ebenfalls durchweg um Myxococcen handelte, die aus den Oberflächengewässern der verschiedenen Bodenseeregionen isoliert worden waren.

2. Versuchsanordnung und -beschreibung

Analog dem Vorgehen, das von Gräf und Sukatsch bei den Wassermyxobakterien verfolgt wurde, gestaltete sich auch die Untersuchung auf protozide bzw. protostatische Aktivität bei den in Oberflächengewässern vorkommenden fruktifizierenden Myxobakterien.

Die Prüfung auf protozid - protostatische Eigenschaften erfolgte mit der von M. Knorr, Haas und B. Knorr sowie später von Klinge und Gräf angegebenen Methodik:

Die zu untersuchenden Myxococcenstämmen wurden strichförmig auf Moutonagarplatten aufgeimpft und 24 Stunden bei 34°C bebrütet. Dann wurden in 1mm Abstand vom Rand der Myxobakterienstrichkultur ein Häufchen frisch aus Schlammproben gezüchteter Amöben aufgebracht.

In der Arbeit von M. Knorr, Haas und B. Knorr über protozid - protostatische Eigenschaften von *Ps. fluorescens* wurden stark protozide Eigenschaften dann festgestellt, wenn bei den Amöben schon nach einigen Stunden eine vollständige Lyse eintrat. War die Wirkung schwächer, wurden die Amöben zumindest teilweise am Ausschwärmen gehindert und enzystierten sich. Hatten die Fluorescenten aber keinerlei protozid - protostatische Wirkung, wuchsen die Amöben von der Impfstelle aus sofort in die Strichkultur hinein und vernichteten die Bakterien in ein bis zwei Tagen.

Bei den uns zur Verfügung stehenden Myxococcenstämmen trat in keinem Fall eine echte Lyse auf, sodass man nicht von einer protoziden Eigenschaft gegen Amöben sprechen kann. Es zeigte sich dann, dass das Ergebnis der Beschreibung der protostatischen Wirkung bei *Sporocytophaga cauliformis* entsprach (Gräf und Sukatsch). Denn auch unser Versuch ergab, dass bei den verschiedenen Myxobakterienstämmen grosse Unterschiede bestehen, was ihre Futterqualität für Amöben betrifft. So konnte auch die Unterscheidung ihres verschiedenen Verhaltens der von Gräf und Sukatsch geschaffenen Einteilung folgen:

- a) Einschwärmen der Amöben in die Myxobakterienkolonie, Fressen derselben und Durchwanderung; keine Hemmstoffbildung.
- b) Einschwärmen in die Myxobakterienkolonie; verzögertes Fressen mit folgender Enzystierung; schwache Hemmstoffbildung.
- c) Kurzfristiges Einschwärmen in die Myxobakterienkolonie; kein Fressen, sondern sofortige Enzystierung.
- d) Verharren der Amöben; keine Lyse, sondern Enzystierung.

Darnach ergaben sich, in Tabelle 1 zusammengefasst, folgende Befunde:

Tabelle 1

	Verhaltensweise der Amöben				
	a	b	c	d	Summe
Gesamtzahl der Stämme	1	13	25	18	57

Es sind also protostatische Eigenschaften bei 18 von insgesamt 57 Stämmen vorhanden, was einer Prozentzahl von 31,6% entspricht.

Die Ergebnisse von Tabelle 1 in ein Koordinatensystem eingetragen, ergeben die in Abb. 10 gezeigte Kennkurve. Aus dieser Abbildung ersieht man, dass nur ein geringer Prozentsatz der Myxococcenstämme (1,8%) gut und ein wesentlich höherer (22,8%) noch mässig gefressen wird, dass aber immerhin eine Protostase zu beinahe einem Drittel (31,6%) vorhanden ist.

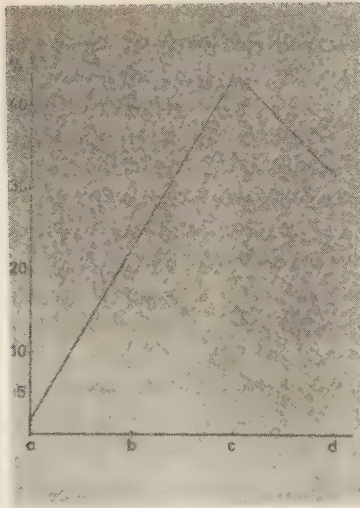


Abb. 10

Das unterschiedliche Verhalten der Myxobakterienstämme gegen Amöben ist kurvenmässig aufgezeichnet.

III. Diskussion

Entsprechend Tabelle 2 lässt sich für die antibakterielle Wirkung folgendes Ergebnis zusammenfassen:
Bei den grampositiven Testkeimen wiesen eine hohe Empfindlichkeit die Corynebakterien auf. Unterschiedlich verhielten sich Staph. aureus und der getestete Streptomycesstamm, während Mycobakterien, Actinomyces israeli und der Sporenbildner Bac. subtilis durchweg resistent blieben.

Tabelle 2

Gegen 17 Myxobakterien getestete Bakterien- stämme	Anzahl der hemmen- den Myxobakterien- stämme	Wirksamkeit
<u>A) Gram - positiv</u>		
Staph. aureus	1	(+)
Corynebact. diphthe- riae	7	+
Corynebact. xerosis	13	+
Mycobact. tuberculo- sis (3 Stämme)	-	-
apathogene Mycobakte- rien (5 Stämme)	-	-
Streptomyces rimosus	5	(+)
Actinomyces israeli	-	-
Bac. subtilis	-	-
<u>B) Gram - negativ</u>		
Ps. aeruginosa	-	-
Ps. fluorescens (2 Stämme)	-	-
E. coli	1	(+)
Pasteurella pseudotuber- culosis (3 Stämme)	137: 12, 138: 16, 139: 11	+
Sporocytophaga cauli- formis, Typ I	-	-
Sporocytophaga cauli- formis, Typ II	-	-
Flavobact.	-	-
<u>C) Pilze</u>		
Hefestämme (3 Stämme)	133: 17, 134: 16, 134: 14	+
Mucor mucedo	9	+
Oidium albicans	17	+

+ = antibiotisch wirksam; - = nicht antibiotisch wirksam;
(+) = nur wenige Stämme antibiotisch wirksam.

Auffallend war vor allem das breite antibiotische Wirkungsspektrum von U II in der 1. Versuchsreihe. Dieser *Myxococcus*stamm hemmte als einziger *Staph. aureus* und *E. coli* im Wachstum.

Der getestete *Streptomyces*stamm wurde von 5 *Myxococcus*stämmen gehemmt, *Corynebact. diphtheriae* von 7, und *Corynebact. xerosis* von 13 Stämmen.

Bei den getesteten gramnegativen Bakterienarten überwogen die resistenten Stämme. So wurden die Wasserkeime *Ps. aeruginosa* und *Ps. fluorescens*, die Flavobakterien und die beiden Stämme von *Sporocytophaga cauliformis* in keinem Fall in ihrem Wachstum gehindert. Auch *E. coli* zeigte eine Hemmung nur bei U II. Die einzigen gramnegativen Stämme, die immerhin von der Mehrzahl der Myxobakterienstämmen gehemmt wurden, waren die 3 Stämme von *Pasteurella pseudotuberculosis* (137: Hemmung bei 12 Myxobakterienstämmen; 138: Hemmung bei 16 Stämmen; 139: Hemmung bei 11 Stämmen).

Am auffallendsten war aber die übereinstimmende Empfindlichkeit bei *Mucor mucedo* (Hemmung bei 9 Stämmen), bei den getesteten Hefestämmen (133: Hemmung bei allen Myxobakterienstämmen; 134: Hemmung bei 16 Stämmen; 135: Hemmung bei 14 Stämmen), und vor allem bei *Oidium albicans*, das gegenüber allen Myxococcenstämmen eine, grösstenteils sogar ausgeprägte Empfindlichkeit zeigte.

Zusammenfassend bedeutet das, dass sich die antibiotische Aktivität der aus dem Bodensee isolierten Myxobakterien im Schwergewicht auf *Corynebakterien*, die getesteten *Pasteurellen*stämmen und vor allem auf Pilze (*Mucor*, Hefen, *Candida*) erstreckt.

Zur protostatisch - protoziden Wirkung ist festzustellen, dass die meisten der getesteten Myxobakterien (75,4%) von Amöben nicht angegriffen werden, und bei einem Drittel der Stämme sogar eindeutig Protostase besteht, während keine protozide Wirkung, d.h. eine völlige Lyse der Amöben nachzuweisen war.

Bei einem Vergleich des Ergebnisses mit der einschlägigen

Literatur zeigt sich übereinstimmend mit Kato eine antibiotische Wirkung sowohl gegen grampositive als auch gegen gramnegative Bakterien, wenn auch mit dem Schwergewicht auf erstere, während Norén und Raper eine Empfindlichkeit nur bei grampositiven Keimen (*Sarcina lutea*, *Bac. subtilis*, *B. megaterium*) fanden und die getesteten gramnegativen Bakterien (*S. marcescens*, *E. coli*) in ihren Versuchen durchweg resistent waren. Singh berichtet allerdings über einen Test von *M. virescens*, *M. fulvus* und *Chondrococcus exiguus* gegen 47 grampositive und 47 gramnegative Keime, bei dem ein wesentlich höherer Prozentsatz gramnegativer Bakterien gehemmt wurde. Eine stark fungicide Wirkung von Myxococcen beschreibt auch G. Finck bei *M. rubescens* und *albus* gegen *Aspergillaceen* und *Penicillium* - Arten.

Dagegen ergaben sich gegenüber der Arbeit von Gräf und Sukatsch über Wassermixobakterien und ihren antibiotischen Wirkstoff einige auffallende Unterschiede der antibiotischen Wirkung. Zwar berichten auch Gräf und Sukatsch über eine Wachstumsheftung von Staphylokokken und *E. coli* und über die Resistenz von *Ps. aeruginosa* und *Ps. fluorescens*. Ihre Untersuchungen ergaben aber auch im Gegensatz zu unseren Versuchen eine Empfindlichkeit von Sporenbildnern.

Der wohl auffälligste Unterschied besteht in der Wirkung auf *Mucor* und *Candida*. Während Gräf und Sukatsch keine Wirksamkeit von *Sporocytophaga cauliformis* gegen diese Stämme nachweisen konnten, erwiesen sich unsere getesteten Myxococcenstämme vor allem bei *Oidium albicans* durchweg als antibiotisch aktiv.

IV. Zusammenfassung

Insgesamt 17 aus Bodenseewasser isolierte Myxobakterienstämme der Gattung *Myxococcus* wurden auf ihre antibiotische

Aktivität gegenüber Bakterien und im Anschluss daran weitere 57 ebenfalls aus Bodenseewasser stammende Myxococcenstämmen gegen Wasseramöben getestet.

Dabei ergab sich folgendes antibiotisches Wirkbild:

a) Von den getesteten Bakterien waren sensibel Corynebakterien, Pasteurellen, *Mucor mucedo*, Hefen und *Oidium albicans*; mässig sensibel waren *Staph. aureus*, der getestete *Streptomyces*-stamm und *E. coli*. Als völlig resistent erwiesen sich die Mycobakterien, *Actinomyces israeli*, *Bac. subtilis*, *Ps. aeruginosa*, *Ps. fluorescens*, *Sporocytophaga cauliformis* und die Flavobakterien.

Gegen 2 Teststämmen - den Hefestamm 133 und *Oidium albicans* - waren alle geprüften Myxococcenstämmen antibiotisch aktiv.

b) Gegenüber Protozoen ergab sich im Versuch gegen Wasseramöben eine protostatistische Wirkung bei 18 der uns zur Verfügung stehenden 57 Myxococcenstämmen, was einem Prozentsatz von 31,6% entspricht. Die Myxococcenstämmen wiesen jedoch keine protozide Wirksamkeit auf.

- 1.) Brauss, F. W., : Beiträge zur Mikrobiologie von Binnengewässern
I. Heyne - Katzenberger, Arch. Hyg. 150 (1967), 716
H. Pech und H. Barth
- 2.) Brockmann, E. R.: Persönliche Mitteilungen
- 3.) Edwards, O. E. : N - Dioxides, a New Class of Amine Oxides
und D. C. Gillespie Tetrahedron Letters 40
(1966), 4867
- 4.) Finck, G.: Biologische und Stoffwechsel - physiologische Studien an Myxococcaceen
Arch. Mikrobiol. 15 (1950), 358
- 5.) Gräf, W.: Anaerobe Myxobakterien, neue Mikroben in der menschlichen Mundhöhle
Arch. Hyg. 145 (1961), 405
- 6.) Gräf, W.: Die Myxobakterien
MNU 18 (1965), 201
- 7.) Gräf, W.: Bewegungsorganellen bei Myxobakterien
Arch. Hyg. 149 (1965), 518
- 8.) Gräf, W.: Ein mikrobiologischer Nachweis fäkaler Spurenstoffe im Wasser
Zbl. f. Bakt. Ref. 206
(1967), 499
- 9.) Gräf, W.: Persönliche Mitteilungen
- 10.) Gräf, W. : Biologie und Vorkommen von aeroben Wassermyxobakterien (Sporocytophaga cauliformis) im Bodensee
P. Stürzenhofecker Arch. Hyg. 148 (1964), 79
- 11.) Gräf, W. Über die Ökologie von Wassermyxobakterien (Sporocytophaga cauliformis) im Bodensee
P. Stürzenhofecker Arch. Hyg. 149 (1965), 256

- 12.) Gräf, W. : Myxobakterientypenquotient
P. Stürzenhofecker als Eutrophierungsindika-
tor bei Oberflächengewäs-
sern
Arch. Hyg. 149 (1965), 265
- 13.) Gräf, W. : Wassermyxobakterien (Spo-
rocytophaga cauliformis)
und ihr antibiotischer Wirk-
stoff
Arch. Hyg. 149 (1965), 694
- 14.) Kato, H.: Notes on Myxobacteria
Ecol. rev. (Japan) 14
(1955), 25
- 15.) Katzenberger, I.; Über den Einfluss von Myxo-
H. Kühlwein und bakterien auf Viren
G. A. Kausche Zbl. f. Bakt. Abt. II, 109
(1956), 478
- 16.) Katzenberger, I.: Über den Einfluss von Myxo-
G. A. Kausche bakterien auf Viren
Naturwiss. 44 (1957), 44
- 17.) Katzenberger, I. Über die Einwirkung von
G. A. Kausche Substanzen aus Myxobakte-
rien auf Viren II
Naturwiss. 46 (1959), 607
- 18.) Klinge, K. : Hämolyse, Eigelb - Reaktion
und W. Gräf und Amöbenauflösung durch
Ps. fluorescens
Zbl. f. Bakt. Abt. I, 174
(1959), 243
- 19.) Knorr, M., : Beobachtungen über das Ver-
F. Haas und sagen der biologischen Sper-
B. Knorr re bei der Entkeimung des
versinkenden Wassers
Arch. Hyg. 140 (1956), 130
- 20.) Kühlwein, H.: Neuere Untersuchungen über
Myxobakterien
Zbl. f. Bakt. Abt. I, 158
(1952), 346
- 21.) Norén, B.: On the Production of Anti-
biotics by Myxobacteria
Svensk. Botan. Tidskr. 47
(1953), 402

- 22.) Norén, B. :
und K. B. Raper
Antibiotic Activity of Myxobacteria in Relation to their Bacteriolytic Capacity
Journ. Bact. 1 (1962), 157
- 23.) Peterson, E. A.:
D. C. Gillespie
und F. D. Cook
A Wide - Spectrum Antibiotic Produced by a Species of Sorangium
Can. J. Microbiol. 12 (1966), 221
- 24.) Pinoy, M. E.:
Sur la nécessité d'une association bactérienne d'une Myxobakterie Chondromyces crocatus
Ann. Inst. Pasteur 35 (1921), 487
- 25.) Oxford, A. E. :
und B. N. Singh
Factors contributing to the Bacteriolytic Effect of Species of Myxococci upon viable Eubacteria
Nature 158 (1946), 745
- 26.) Singh, B. N.:
Myxobacteria in Soils and Composts; their Distribution, Number and Lytic Action on Bacteria
J. Gen. Microbiol. 1 (1947), 1
- 27.) Snieszko, S. F. :
Mc Allister and Hitchner
Further Studies on the Biology of Certain Myxobacteria
J. Bact. 41 (1941), 26
- 28.) Solntzewa, L. J.:
On the Lysis of Phytopathogenic Bacteria caused by Myxobacteriales
Microbiol. (Moskau) 8 (1939), 700
- 29.) Thaxter, R.:
On the Myxobacteriaceae, a New Order of Schizomycetes
Bot. Gaz. 17 (1892), 389

L e b e n s l a u f

Am 16. Oktober 1943 wurde ich, Eva Maria Merkel als Tochter des Zahnarztes Dr. Hermann Merkel und seiner Ehefrau Ingeborg in Nürnberg geboren. Nach der Volksschule besuchte ich vom 1. 9. 1953 bis 17. 7. 1962 das Realgymnasium der Städt. Mädchenoberrealschule I in Nürnberg, an der ich auch im Juni 1962 mit Erfolg die Reifeprüfung ablegte. Das Studium der Zahnheilkunde absolvierte ich vom Wintersemester 1962/63 ab an der Universität von Erlangen - Nürnberg. Dort bestand ich auch die Zahnärztliche Vorprüfung am 15. März 1965 und zuletzt die Zahnärztliche Prüfung am 6. Februar 1968, beide mit der Gesamtnote "sehr gut".

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 852 Erlangen, Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 2 29 90
